

На правах рукописи

Шандин Алексей Николаевич

**Клинические варианты и молекулярные основы
идиопатической низкорослости у детей**

14.01.02 – Эндокринология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва 2011

Работа выполнена в ФГУ Эндокринологический научный центр
Министерства здравоохранения и социального развития РФ
(директор – академик РАН и РАМН И.И.ДЕДОВ)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Петеркова Валентина Александровна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Марова Евгения Ивановна

доктор медицинских наук, профессор
Самсонова Любовь Николаевна

Ведущая организация: Научный центр здоровья детей
Российской Академии Медицинских наук

Защита состоится «02» марта 2011 г. в 14 часов на заседании
Диссертационного совета Д. 208.126.01 в ФГУ Эндокринологический
научный центр Минздравсоцразвития РФ по адресу: Москва, ул.
Дм.Ульянова, дом 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ ЭНЦ
Минздравсоцразвития РФ

Автореферат разослан «28» января 2011 г.

Учёный секретарь
Диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Е.А. Трошина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования:

Идиопатическая низкорослость (ИН) характеризуется отставанием в росте (SDS роста менее -2), при котором исключены все другие известные причины (СТГ-дефицит, синдром Шерешевского-Тернера и др.). Выделяют семейную и несемейную формы. Причины идиопатической низкорослости неизвестны. По данным литературы идиопатическая низкорослость диагностируется в более чем 80 % всех случаев низкорослости, и это состояние встречается в несколько раз чаще, чем СТГ-дефицит. Это и обуславливает актуальность темы. Среди возможных причин идиопатической низкорослости обсуждаются молекулярные поломки на различных уровнях системы СТГ-ИФР-1: нарушение синтеза и/или секреции самого гормона роста (нейросекреторная дисфункция), биологически неактивный СТГ (мутации гена *GHI*), частичная (парциальная) нечувствительность к гормону роста в результате дефекта его рецептора (мутации гена *GHR*) или нарушения пострецепторных механизмов транскрипции и трансдукции сигнала (нарушение системы JAK2-STAT5b-IGF-1), а также нарушения на уровне транспорта ИФР-1 (дефекты генов *IGFBP3*, *IGFALS*), связывания его с рецептором (ген *IGF-1-R*) или пострецепторной передачи сигнала и нечувствительности эпифизарных пластинок к ИФР-1 и другим ростовым факторам (патология генов *FGFR-1*, *SHOX*). Анализ генов, ответственных за идиопатическую низкорослость, является актуальным не только для совершенствования диагностики, но также для прогнозирования конечного роста и выбора адекватной терапии.

К настоящему времени в мире накоплено много данных об эффективности и безопасности применения рекомбинантного гормона роста у детей с ИН. В некоторых странах (США) идиопатическая низкорослость является официальным показанием к назначению ростстимулирующей терапии. Международный консенсус по диагностике и лечению ИН 2008 года также рекомендует проведение лечения при ИН. Однако, в нашей стране до настоящего времени проведено лишь одно подобное исследование, оценивающее эффективность терапии гормоном роста в течение 3-6 месяцев у 29 детей с семейной низкорослостью, из которых лишь 20 закончили 6-месячный курс (проф. Касаткина Э.П., 1996).

Цель исследования:

Изучить структуру, клинические особенности и молекулярные основы синдрома идиопатической низкорослости, а также разработать алгоритм клинической диагностики и лечения.

Задачи исследования:

1. Оценить антропометрические особенности синдрома ИН у детей и подростков.
2. Исследовать секрецию гормона роста и ростовые факторы у детей с ИН.
3. Оценить эффективность и безопасность лечения рекомбинантным гормоном роста детей с ИН.
4. Провести корреляционный анализ взаимосвязи эффективности терапии гормоном роста с клиническими, гормональными и молекулярно-генетическими нарушениями.
5. Исследовать гены *GHI*, *GHR*, *STAT5b*, *IGF1*, *IGFALS*, *IGF1R* у детей с ИН.

Научная новизна:

Впервые проведена оценка естественного течения ИН у детей российской популяции на основе проспективного исследования конечного достигнутого роста. Показано, что только 47,7% детей с ИН достигает нормального конечного роста, а в остальных 52,3% случаев конечный рост остается ниже нижней границы нормы.

Впервые в нашей стране проведена оценка эффективности и безопасности применения рекомбинантного гормона роста в течение 3 лет у детей с ИН. Показано, что лечение ГР у детей с ИН безопасно и сопровождается повышением скорости роста, с нормализацией роста у 37% детей через 2 года лечения. Кроме того показано, что эффект терапии лучше выражен в младшем возрасте, при применении больших доз и не зависит от уровня ИРФ-1, данных теста на генерацию ИРФ-1, а также различных вариантов делеционного полиморфизма гена рецептора ГР.

Впервые исследованы гены системы СТГ- ИРФ-1 (*GHI*, *GHR*, *STAT5b*, *IGFALS*, *IGF1*, *IGF1R*), а также полиморфизм гена рецептора гормона роста *GHRd3* при ИН. Мутаций указанных генов выявить не удалось, однако, были найдены полиморфизмы, в том числе ранее неописанные. Частота встречаемости различных аллельных вариантов полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3* не отличалась от частоты, наблюдающейся у 150 здоровых детей российской популяции (Орловский, 2004). Не было обнаружено влияния генотипа *GHRd3* на клинические и лабораторные характеристики (в том числе на степень отставания в росте, скорость роста, стимулированную секрецию СТГ и уровень ИРФ-1), а также результаты теста на генерацию ИРФ-1.

Впервые в России проведена оценка чувствительности детей с ИН к гормону роста с помощью теста на генерацию ИРФ-1. Показано, что синдром резистентности к СТГ наблюдается у 27,3% детей с ИН с низким уровнем ИРФ-1 и характеризуется более ранним и выраженным отставанием в росте, значительным дефицитом ИРФ-1 и более плохим ростовым прогнозом.

Практическая значимость:

Доказана эффективность и безопасность применения рекомбинантного гормона роста с ростстимулирующей целью при идиопатической низкорослости, что позволяет рекомендовать начинать лечение в младшем школьном возрасте. В некоторых случаях для уточнения причины ИН возможно проведение дополнительных методов исследования (молекулярно-генетический анализ, тест на генерацию ИРФ-1). Выделена группа детей с ИН с “синдромом резистентности к СТГ”, что в перспективе диктует необходимость исследования применения препаратов ИРФ-1 для лечения этой группы. Результаты работы являются базой для дальнейших исследований.

Апробация работы.

Основные результаты исследования по материалам диссертации доложены на всероссийском конгрессе "Современные технологии в эндокринологии" (тиреоидология, нейроэндокринология, эндокринная хирургия)(23-26 ноября 2009, Москва), а также на совместной международной конференции обществ детских эндокринологов LWPES/ESPE (9-12 сентября 2009, США, Нью-Йорк). Диссертация апробирована на межотделенческой конференции ФГУ ЭНЦ Росмедтехнологий (16 июня 2010 года).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 2 статьи в журнале, рецензируемом ВАК РФ, а также методическое пособие для врачей с рекомендациями по диагностике и лечению идиопатической низкорослости.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав (обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 18 отечественных и 183 зарубежных источника. Работа содержит 48 таблиц и 30 рисунков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения антропометрических особенностей синдрома идиопатической низкорослости у детей и подростков всего было обследовано 298 детей с ИН (229 мальчиков и 69 девочек) в возрасте от 2,9 до 19 лет (средний хронологический возраст $11,2 \pm 3,5$ лет).

Критериями включения были: 1) рост < -2 SDS, 2) нормальные длина и масса тела при рождении (>-2 SD соответственно сроку гестации), 3) отсутствие диспропорции телосложения, 4) отсутствие хронических системных заболеваний и пороков развития, 5)

нормальный кариотип (у девочек), 6) отсутствие синдромальной патологии, 7) отсутствие недостаточности питания, 8) максимальный выброс СТГ на стимуляции > 10 нг/мл, по крайней мере на 1 из проб.

Для сравнения степени отставания в росте при ИН и других вариантах низкорослости дополнительно было обследовано 85 детей с МДГА, 165 детей с изолированным СТГ-дефицитом (112 с тотальной и 53 с парциальной формой), 69 девочек с синдромом Шерешевского-Тернера и 42 пациента с ЗВУР.

Анализ конечного достигнутого роста проведен у 44 детей с ИН (37 мальчиков и 7 девочек), ранее обследовавшихся в ЭНЦ в период с 1994 по 2005 год. Хронологический возраст на момент первого обращения составлял $12,9 \pm 3,0$ лет (от 5 до 18 лет). SDS роста в среднем равнялся $-2,69 \pm 0,49$ ($-4,08 \div 2,00$). Конечный рост оценивался при возрасте не менее 20 лет.

Уровень ИРФ-1 в крови был определен у 163 детей с ИН (127 мальчиков и 36 девочек) в возрасте от 2,9 до 19 лет (средний хронологический возраст $10,5 \pm 3,7$ лет).

Стандартный (4-дневный) тест на генерацию ИРФ-1 был проведен у 33 допубертатных детей (24 мальчиков и 9 девочек) с ИН и низким уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 менее -1). Возраст обследуемых составлял в среднем $7,3 \pm 2,7$ лет (от 3,4 до 12 лет). SDS ИРФ-1 составил в среднем $-2,19 \pm 0,88$ ($-4,19 \div -1,06$).

МРТ головного мозга было проведено у 158 детей с ИН (125 мальчиков и 33 девочки) в возрасте от 3,8 до 19 лет.

Эффективность и безопасность лечения рекомбинантным гормоном роста исследовалась у 93 детей. Группа А ($n=38$) получала рГР в дозе 0,033 мг/кг/сут, группа В ($n=18$) получала рГР в дозе 0,05 мг/кг/сут, 3-я группа ($n=37$) была группой контроля. Терапия рГР проводилась в течение 6 мес у 56 детей, в течение 12 мес у 41 ребенка, 18 мес у 24 детей и 24 мес у 18 детей. Лечение проводилось препаратами рГР “Нордитропин НордиЛет”, “Генотропин”, “Сайзен” и “Растан”.

Молекулярно-генетический анализ генов системы СТГ-ИРФ-1 проведен у 20 пациентов с ИН. Исследовалось 6 генов: *IGFALS* ($n=20$), *GHR* ($n=13$), *STAT5b* ($n=20$), *IGF1R* ($n=8$), *IGF1* ($n=3$), *GH-1* ($n=3$).

Для изучения влияния полиморфизма гена рецептора гормона роста GHRd3 на клинические и лабораторные характеристики при ИН генотипировано 39 детей с ИН в возрасте от 4 до 12 лет (средний возраст $7,7 \pm 2,4$ лет).

Рост детей измерялся с помощью механического ростомера (Harpender stadiometer, Holtain Ltd, UK) с точностью до 0,1 см. Параметры физического развития (рост, скорость роста),

выраженные в SDS, оценивались по британским стандартам (Tanner, 1966). Оценка длины и массы тела при рождении проводилась по стандартам Niklasson (2008).

Классификация идиопатической низкорослости на семейную и несемейную формы проводилась на основе международного консенсуса. Целевой (генетический) рост рассчитывался по формуле: (рост отца + рост матери \pm 13 см) / 2. Семейная низкорослость ставилась при наличии низкорослых родственников (рост менее -1,5 SD, т.е. мужчин менее 165 см и женщин менее 154 см).

Оценка полового развития осуществлялась согласно классификации Tanner (1968).

Гормональные исследования проводились в лаборатории гормонального анализа ФГУ ЭНЦ (рук. – проф. Н.П. Гончаров). Стимулированная секреция СТГ исследовалась на фоне стандартных фармакологических тестов с клонидином 0,15 мг/кВ.м (0, 30, 60, 90, 120 мин) и, или инсулином 0,1 Ед/кг (0, 15, 30, 45, 60, 90 мин). Определение концентрации СТГ проводилось радиоиммунным методом (RIA I^{125}). Уровень сывороточного ИФР-1 измерялся при помощи радиоиммунного анализа с использованием коммерческого набора IGF-1 RIA. SDS ИФР-1 рассчитывался как $X - X'/SD$, где X – lg значений ИФР-1 пациента, X' – lg средних значений ИФР-1 для данного хронологического возраста и пола, SD – lg стандартного отклонения ИФР-1 для данного хронологического возраста и пола по референсным данным Lofqvist C, 2001.

Биохимические исследования проводились в биохимической лаборатории ФГУ ЭНЦ (рук. – А.В. Ильин) при помощи анализатора Hitachi 912 по стандартной методике. Определение концентрации глюкозы, общего холестерина, ЛПВП, ЛПНП, триглицеридов, щелочной фосфатазы, ионизированного кальция, фосфора, АЛТ, АСТ, общего белка в сыворотке периферической крови проводилось при использовании стандартных наборов фирмы Roche (Швейцария).

Определение гликированного гемоглобина (HbA1c) проводилось на анализаторе «ДСА 2000+» фирмы «Bayer» (Германия) методом ингибирования реакции латекс-агглютинации.

Рентгенография кистей с лучезапястными суставами осуществлялась в отделении рентгенологии ФГУ ЭНЦ (рук. – д.м.н. Ремизов О.В.). Костный возраст пациентов определялся в соответствии с методикой, представленной в «Рентгенологическом атласе развития скелета руки и запястья». Greulich W, Pyle S, (второе издание, 1959). Динамика костного созревания оценивалась как изменение костного возраста за определенный период времени (1 год и 2 года). Прогнозируемый рост рассчитывался по методу Bayley-Pinneau (1982).

Магнитно-резонансная томография головного мозга проводилась в отделении МР-томографии ФГУ ЭНЦ (рук. – д.м.н. А.В. Воронцов) на томографе фирмы Siemens (Erlangen, Германия) с напряженностью магнитного поля 1 Тесла. Для получения сагиттальных, фронтальных и аксиальных изображений применялись параметры TR/TE/FA = 330/12/70 (импульсные последовательности «турбо-спин-эхо», взвешенные по T1) и 5000.119.186 (импульсные последовательности «турбо-спин-эхо», взвешенные по T2). Толщина среза составляла 3 мм для сагиттальных и фронтальных изображений и 4 мм для аксиальных изображений. Исследование осуществлялось без предварительной подготовки в положении лежа на спине.

Молекулярно-генетический анализ генов *GHI*, *GHR*, *STAT5b*, *IGFALS*, *IGF1*, *IGF1R* проведен в лаборатории IGF-I Deficiency Research Center (рук – проф. Ron G. Rosenfeld), Oregon Health and Science University, США.

Исследование полиморфизма гена рецептора гормона роста (*GHRd3*) проводилось автором в лаборатории молекулярной генетики человека отдела молекулярной биологии и генетики НИИФХМ Росздрава (зав. лабораторией к.б.н. Генерозов Э.В.). Выделение геномной ДНК из цельной венозной крови проводили, используя набор реактивов DNA Prep100 (DIAtom™) по методике, рекомендованной изготовителем. Изучение делеционного полиморфизма *GHRd3* осуществлялось с использованием метода ПЦР-амплификации с последующим разделением и анализом фрагментов в агарозном геле.

Статистический анализ проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Данные приведены в виде $M \pm SD$ (min-max), где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, min – минимальное значение, max – максимальное значение. Количественные данные проверялись на нормальность распределения с помощью теста Шапиро-Уилка. При анализе параметрических данных использовался Т-тест, при непараметрическом распределении для анализа различий данных применялись критерий Вилкоксона для связанных групп и критерий Манна-Уитни для несвязанных групп. Достоверным считался уровень значимости $p < 0,05$. Выявление корреляционной зависимости проводилось с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ.

Антропометрические особенности синдрома ИН у детей

Распределение по полу и возрасту. Для изучения антропометрических особенностей синдрома идиопатической низкорослости у детей и подростков всего было обследовано 298 детей с ИН (229 мальчиков и 69 девочек) в возрасте от 2,9 до 19 лет (средний

хронологический возраст $11,2 \pm 3,5$ лет). Средний возраст обращаемости в среднем у мальчиков составил $11,5 \pm 3,6$ лет, у девочек $10,1 \pm 3,1$ лет. Распределение детей в зависимости от пола и возраста представлено на рис.1.

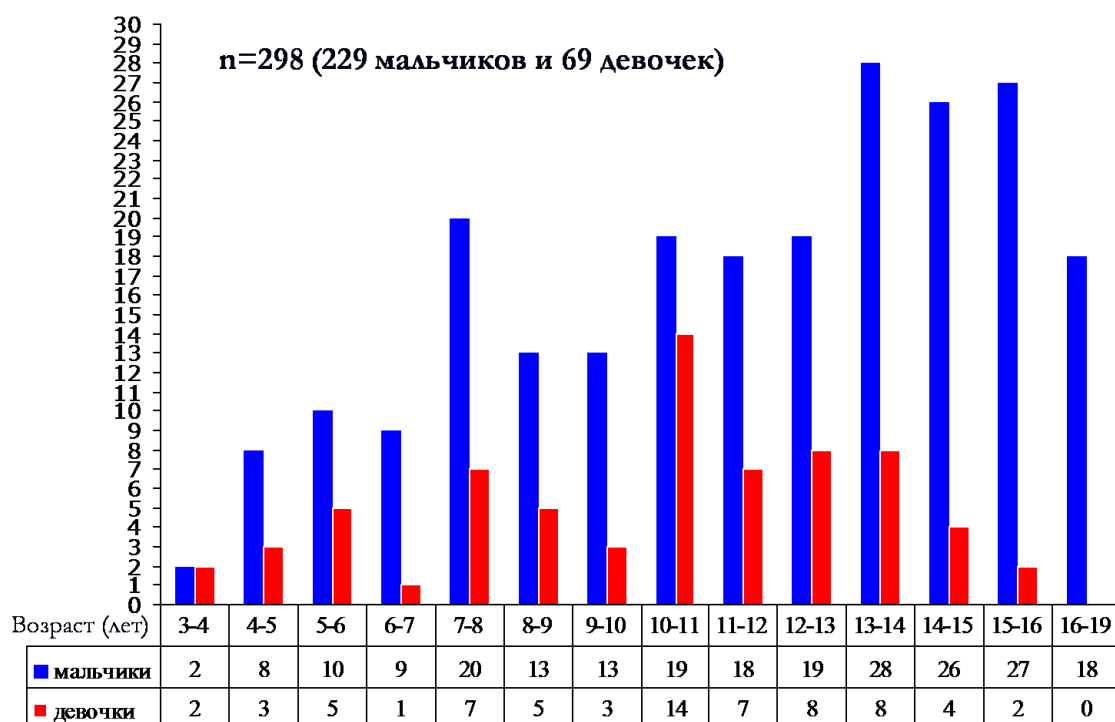


Рис.1. Распределение детей с ИН в зависимости от пола и возраста

Частота встречаемости ИН у девочек наблюдалась нами в гораздо меньшем проценте случаев, чем у мальчиков. Соотношение мальчиков и девочек составило в среднем 3,3 : 1. Наибольший период обращаемости независимо от пола совпадает со средним возрастом начала полового созревания (возраст обращаемости в среднем у мальчиков составил $11,5 \pm 3,6$ лет, у девочек $10,1 \pm 3,1$ лет).

Степень отставания в росте при ИН. Степень отставания в роста (SDS роста) при ИН составила в среднем $-2,91 \pm 0,67$ ($-6,16 \div -2,00$). При сравнении степени отставания в росте при ИН и других причинах низкорослости (МДГА, ИДГА, СШТ и ЗВУР) выявлено, что в среднем при ИН она менее выражена (рис.2). Однако, интересной находкой стало обнаружение, что SDS роста при ИН и парциальном СТГ-дефиците статистически не отличались. SDS роста при парциальном СТГ-дефиците составлял в среднем $-2,87 \pm 0,77$ ($-5,03 \div -2,00$). Кроме, того у 118 детей (39,6 %) с ИН наблюдалось выраженное отставание в росте, сравнимое с отставанием в росте при гипофизарном нанизме (SDS роста более -3).

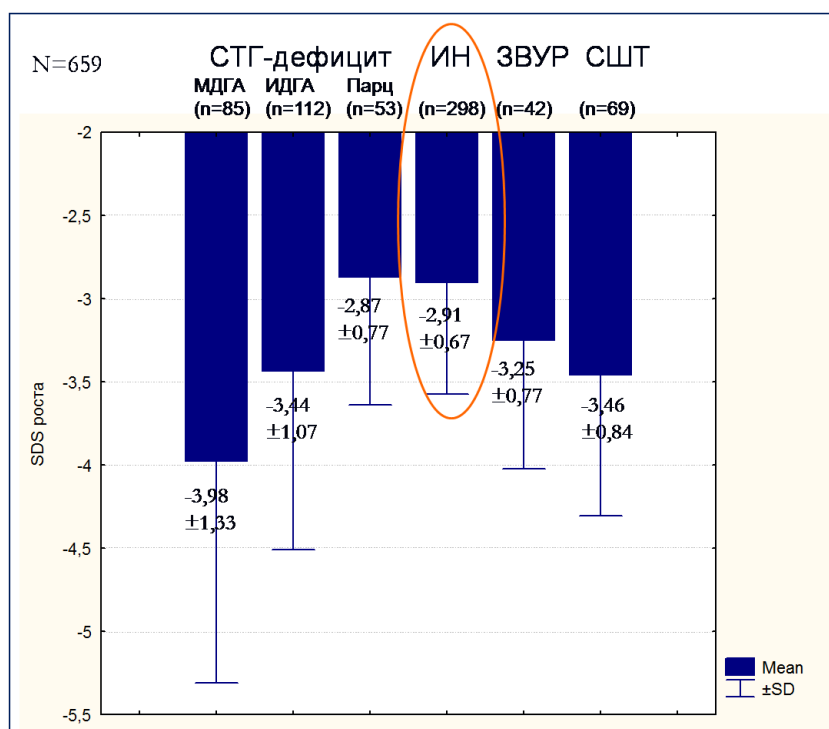


Рис.2. Степень отставания в росте при различных формах низкорослости.

Сравнительная клиническая характеристика различных вариантов ИН. Все дети с ИН были разделены на 4 группы согласно классификации ESPE (2007), после чего была проведена подробная сравнительная характеристика каждой из них. Первоначально всех детей с ИН (n=298) в зависимости от роста родителей поделили на 2 группы - семейную (n=50) и несемейную низкорослость (n=248). В дальнейшем (девочки после 13 лет и мальчики после 14 лет, n=101) обе формы были подразделены на низкорослость с задержкой пубертата и без нее. Задержка полового созревания (отсутствие увеличения молочных желез у девочек в 13 лет; объем яичек меньше 4 мл у мальчиков в 14 лет) наблюдалась практически с одинаковой частотой как при семейной, так и при несемейной формах низкорослости (в 60,6 и 58,8 % случаев, соответственно). Выявлено, что возраст обращения зависит не столько от формы низкорослости (он достоверно не отличался между семейной и несемейной формах), сколько от наличия или (отсутствия) задержки пубертата. Так при формах с задержкой пубертата, независимо от семейного анамнеза, возраст обращения был меньше, чем при ее задержке. При задержке пубертата он не отличался при семейной и несемейной формах, аналогично, как не отличался он и при семейной и несемейной формах без задержки пубертата.

Табл.1.

Сравнительная характеристика семейной и несемейной форм низкорослости.

	Семейная низкорослость	Несемейная низкорослость	Достоверность различий
Число детей n = 298	n = 50	n = 248	
Соотношение по полу (228 м и 70 д) 3,3 : 1	31 м и 19 д 1,6 : 1	197 м и 51 д 3,9 : 1	P = 0,018
Хронологический возраст (лет)	10,3 ± 3,7 (4,0÷19,0)	11,4 ± 3,5 (2,9÷18,1)	P > 0,05
Костный возраст (лет)	7,6 ± 3,9 (1,0÷18,5)	8,1 ± 3,4 (1,0÷15,0)	P > 0,05
Отставание костного возраста от паспортного (лет)	2,7 ± 1,4 (0,1÷6,0)	3,2 ± 1,4 (0,1÷8,1)	P = 0,02
Длина тела при рождении (SDS)	-0,12 ± 0,93 (-1,47÷1,75)	0,20 ± 1,05 (-1,47÷2,86)	P > 0,05
Вес тела при рождении (SDS)	-0,57 ± 0,86 (-1,85÷1,16)	-0,44 ± 0,97 (-1,85÷2,71)	P > 0,05
SDS роста	-3,03 ± 0,84 (-6,16÷-2,00)	-2,88 ± 0,63 (-4,77÷-2,00)	P > 0,05
Прогнозируемый рост (SDS) (по В-Р) (n=178)	-1,81 ± 1,63 (-5,19÷1,55) (n=28)	-1,08 ± 1,45 (-4,45÷2,78) (n=150)	P = 0,017
Конечный рост (SDS) (n=44)	-1,79 ± 0,91 (-3,71÷-0,7) (n=18)	-1,38 ± 1,01 (-3,71÷0,5) (n=26)	P > 0,05

При сравнении семейной и несемейной форм низкорослости наблюдались статистически значимые отличия в степени отставания костного возраста от паспортного, прогнозируемом росте, а также по половому признаку (табл.1). При семейной низкорослости наблюдалось статистически значимое меньшее отставание костного возраста от паспортного, а также более худший прогнозируемый рост (по Bayley-Pinneau). Наименьшее отставание костного возраста от паспортного и более худший прогноз наблюдался при семейной низкорослости без задержки пубертата, наибольшая задержка костного созревания и более благоприятный прогноз отмечался при несемейных формах (без задержки и, чуть в меньшей степени, при задержке полового созревания).

Достоверных отличий выраженности степени отставания в росте (SDS роста) между группами получено не было. Однако, при проведении корреляционного анализа по

Спирмену в общей группе ИН (n=298) наблюдалась слабая корреляционная взаимосвязь между SDS целевого роста и SDS роста ($r=0,22$, $p=0,0006$, $n=298$).

Конечный достигнутый рост при ИН. Для оценки естественного течения идиопатической низкорослости был проведен анализ конечного достигнутого роста у 44 детей (37 мальчиков и 7 девочек) с ИН, ранее обследовавшихся в ЭНЦ по поводу роста. Конечный рост оценивался при возрасте не менее 20 лет. Было показано, что 33 % мальчиков и 43 % девочек так и остаются низкорослыми (менее -2 SDS), еще 19 % мальчиков и 14 % девочек невысокого роста (менее -1,5 SDS), оставшиеся 48 % мальчиков и 43 % девочек достигают нормального роста, хотя даже они обычно не выше 50 перцентили.

При проведении корреляционного анализа по Спирмену выявлены следующие корреляционные связи конечного достигнутого роста (SDS) при ИН:

- с возрастом начала отставания в росте ($r=0,55$, $p=0,002$, $n=29$)
- с возрастом обращения ($r=0,38$, $p=0,01$, $n=44$)
- с целевым ростом (SDS) ($r=0,37$, $p=0,015$, $n=44$)
- с ростом матери ($r=0,36$, $p=0,002$, $n=44$)

При разделении детей на семейную и несемейную формы низкорослости были получены следующие результаты (рис.3).

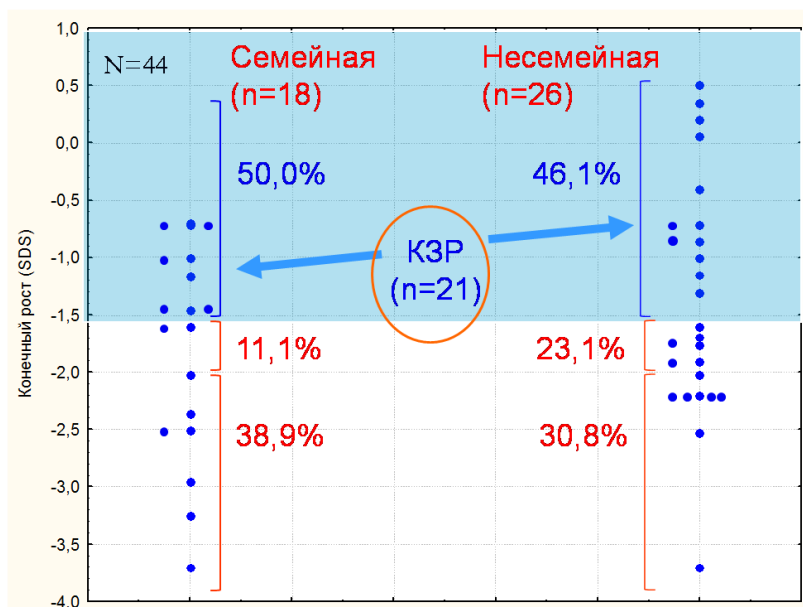


Рис.3. Сравнение конечного достигнутого роста у детей с семейной и несемейной формами низкорослости.

Конечный рост, в среднем, был несколько хуже при семейной форме ($-1,79 \pm 0,91$) по сравнению с несемейной формой ($-1,38 \pm 1,01$). Однако, различия были статистически не

достоверны. Интересной находкой стало обнаружение, что нормальный конечный рост (более $-1,5$ SDS) наблюдается одинаково часто при обеих формах, его достигли 50 % детей с семейной и 46,1 % детей с несемейной формой низкорослости. При этом нормальный конечный рост в наибольшем проценте случаев (83,3 %) отмечен при несемейной низкорослости с задержкой пубертата (табл.2).

Табл.2

Процент детей, достигших нормального конечного роста ($> -1,5$ SDS).

Семейная низкорослость без задержки пубертата	0 %
Семейная низкорослость с задержкой пубертата	66,7 %
Несемейная низкорослость без задержки пубертата	25,0 %
Несемейная низкорослость с задержкой пубертата	83,3 %

В то же время, необходимо отметить, что во всех группах (за исключением семейной низкорослости без задержки пубертата) были случаи как с благоприятным, так и с неблагоприятным конечным ростом. Причину такой разнородности внутри групп выяснить не удалось. Возможно, к причинным факторам можно отнести возраст начала отставания в росте и генетический (наследственный) фактор. Интересно, что достижение целевого роста ($\pm 1,5$ SDS) наблюдалось в большем проценте случаев (83,3 %) у детей с задержкой пубертата, независимо от семейной отягощенности по низкорослости (табл.3).

Табл.3.

Процент детей, достигших целевого роста ($\pm 1,5$ SDS).

Семейная низкорослость без задержки пубертата	50,0 %
Семейная низкорослость с задержкой пубертата	83,3 %
Несемейная низкорослость без задержки пубертата	50,0 %
Несемейная низкорослость с задержкой пубертата	83,3 %

Таким образом, на основании клинических и анамнестических данных можно выделить несколько подтипов ИН, отличающихся между собой как по клиническим проявлениям, так и по ростовому прогнозу. В то же время, несмотря на достаточно четкие критерии, существует гетерогенность внутри этих групп.

Прогнозирование конечного роста при ИН. Для оценки возможности прогнозирования конечного роста при ИН применялась оценка диагностической эффективности метода Bayley-Pinneau и метода, основанного на вычислении целевого (генетического) роста (рис.4). При принятии в качестве критерия оценки теста SDS роста равное -2 , чувствительность метода Bayley-Pinneau составила 30,8 %, специфичность – 81 %, диагностическая эффективность – 55,9 %. При оценке метода прогнозирования конечного

роста вычислением целевого (генетического) роста с использованием аналогичных критериев, чувствительность метода равнялась 0 %, специфичность – 96,6 %, диагностическая эффективность -48,3 %.

Таким образом, использование метода Bayley-Pinneau обладает большей диагностической эффективностью, чем применение метода, основанного на вычислении целевого (генетического) роста.

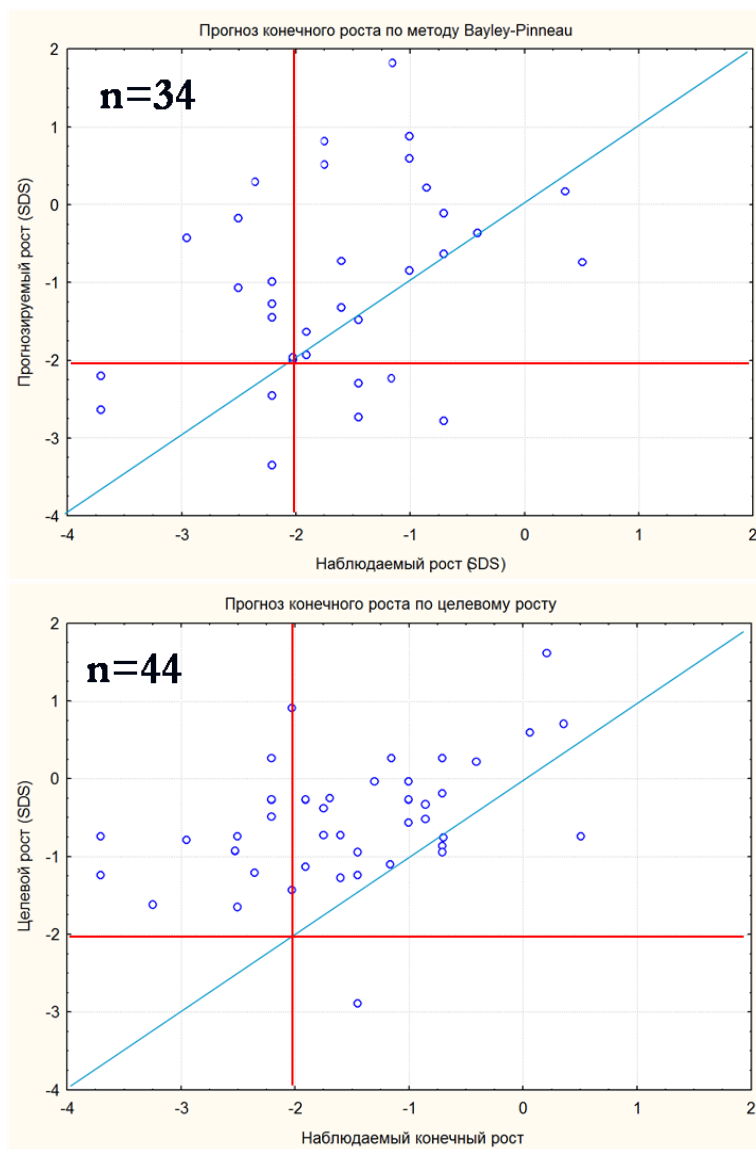


Рис.4. Оценка диагностической эффективности метода прогнозирования конечного роста при ИН а) по Bayley-Pinneau и б) вычислением целевого (генетического) роста.

Секреция СТГ и ростовых факторов у детей с ИН.

Секреция СТГ при ИН. При изучении секреции СТГ при ИН, с целью выявления ее возможного влияния на антропометрические параметры и секрецию ростовых факторов, не было выявлено какой-либо взаимосвязи между пиком СТГ и степенью отставания в росте, целевым ростом родителей или прогнозируемым ростом, а также базальным

уровнем СТГ и секрецией ИРФ-1. Таким образом, уровень СТГ на стимуляции не кажется достоверным показателем, позволяющим оценить степень нарушения роста или нарушения секреции ИРФ-1 при ИН. При этом диагностическая ценность стимуляционного теста, по-видимому, ограничивается только дифференциальной диагностикой ИН с СТГ-дефицитом, когда важен лишь сам факт нормального выброса СТГ, а не степень его повышения.

МР-картина головного мозга при ИН. Для изучения влияния МР-картины головного мозга на антропометрические параметры, а также на секрецию СТГ и ростовых факторов обследовано 158 детей с ИН (125 мальчиков и 33 девочки) в возрасте от 3,8 до 19 лет. Нормальная МР-картина головного мозга наблюдалась у 60,1 % детей с ИН (95 детей), в остальных случаях наблюдались различной степени аномалии аденогипофиза – гипоплазия гипофиза в 28,5 % (45 детей) и "пустое" турецкое седло в 11,4 % (18 детей). При сравнении этих трех групп между собой статистически значимых отличий получено не было. Таким образом, нормальная картина МРТ головного мозга не исключает нарушения со стороны роста. В то же время патология гипофиза не обязательно сопровождается нарушением секреции СТГ.

Секреция ИРФ-1 при ИН. Для изучения особенностей секреции ИРФ-1 у детей с ИН было обследовано 163 ребенка (127 мальчиков и 36 девочек) в возрасте от 2,9 до 19 лет (средний хронологический возраст $10,5 \pm 3,7$ лет) (рис.5).

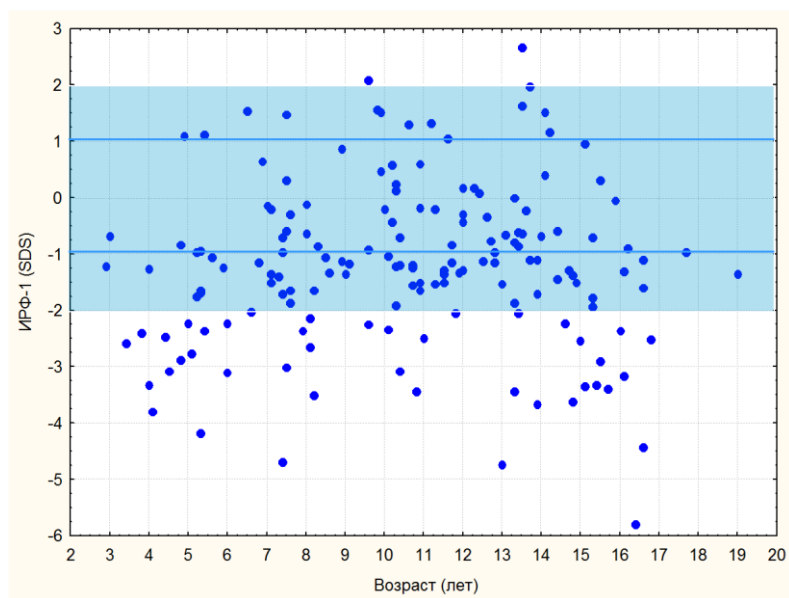


Рис.5. Уровень ИРФ-1 у детей с ИН.

В ходе исследования нами была подробно изучена секреция ИРФ-1. Для этого все дети в зависимости от уровня ИРФ-1 были разделены на 3 основные группы:

1. со сниженным уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 меньше -1),
2. с нормальным уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 от -1 до +1),

3. с повышенным уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 больше +1).

Группа с низким уровнем ИРФ-1 в дальнейшем была поделена на 3 подгруппы:

1. с умеренным (пограничным) снижением уровня ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 от -2 до -1),
2. с выраженным дефицитом ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 от -3 до -2),
3. с экстремально низким уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 менее -3).

Группа детей с повышенным уровнем ИРФ-1 была также поделена на 2 подгруппы:

1. с умеренным (пограничным) повышением уровня ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 от +1 до +2),
2. с выраженным повышением уровня ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 более +2).

Каждая подгруппа была тщательно изучена в отдельности и в сравнении с другими.

Распределение детей в зависимости от концентрации ИРФ-1 показано на рис.6.

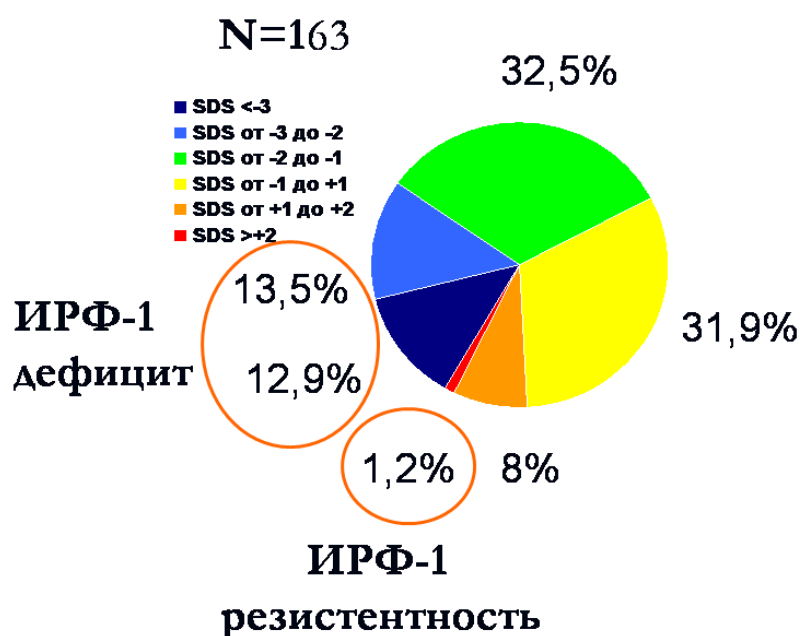


Рис.6. Распределение детей с ИН в зависимости от уровня ИРФ-1.

На основе подробного сравнительного анализа детей с различной концентрацией ИРФ-1 в крови было выявлено следующее:

1. В большинстве случаев (64,4 %) при ИН секреция ИРФ-1 практически не нарушена с нормальным или на нижней границы нормы уровнем ИРФ-1. Примерно 1/4 детей с ИН (26,4 %) имеет серьезный дефицит ИРФ-1 (менее -2 SDS). Повышение уровня ИРФ-1 (более +1 SDS) встречается гораздо реже (в 9,2 %) и, сопровождается резистентностью к ИРФ-1.
2. Дети с пограничным (умеренно сниженным) уровнем ИРФ-1 представляют собой переходную группу между нормой и ИРФ-1 дефицитом, достоверно не отличаясь от них.

3. Чем меньше уровень ИРФ-1, тем больше выражено отставание в росте.
4. Дети с дефицитом ИРФ-1 имеют меньший ИМТ, вероятно, в результате возникновения резистентности к гормону роста и липолитического действия компенсаторно повышенного уровня СТГ при отсутствии липогенетического действия сниженного ИРФ-1.
5. Несмотря на менее выраженную задержку роста, дети с высоким ИРФ-1 (резистентность к ИРФ-1) имеют более худший ростовой прогноз.

Оценка чувствительности к СТГ с помощью теста на генерацию ИРФ-1. У 33 допубертатных детей (24 мальчиков и 9 девочек) с ИН и низким уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 менее - 1) (предполагаемая резистентность к гормону роста) для изучения чувствительности к экзогенному СТГ был проведен стандартный (4-дневный) тест на генерацию ИРФ-1. Возраст обследуемых составлял в среднем $7,3 \pm 2,7$ лет (от 3,4 до 12 лет). SDS ИРФ-1 составил в среднем $-2,19 \pm 0,88$ ($-4,19 \div -1,06$).

По результатам теста на генерацию все дети были разделены на 2 группы: с нормальной и нарушенной чувствительностью к гормону роста (синдром резистентности к ГР).

В качестве критерия оценки теста применялись критерии Blum W (повышение уровня ИРФ-1 на тесте более 15 нг/мл расценивалось как хороший ответ, менее 15 нг/мл – как отсутствие ответа). При использовании данного критерия доля детей с синдромом резистентности к ГР по данным теста составила 27,3 % (9 из 33 детей). При использовании в качестве контроля 10 детей с ИН с нормальным базальным уровнем ИРФ-1 (и, следовательно, с нормальной чувствительностью к гормону роста) специфичность теста на генерацию составила 100 % (рис.7).

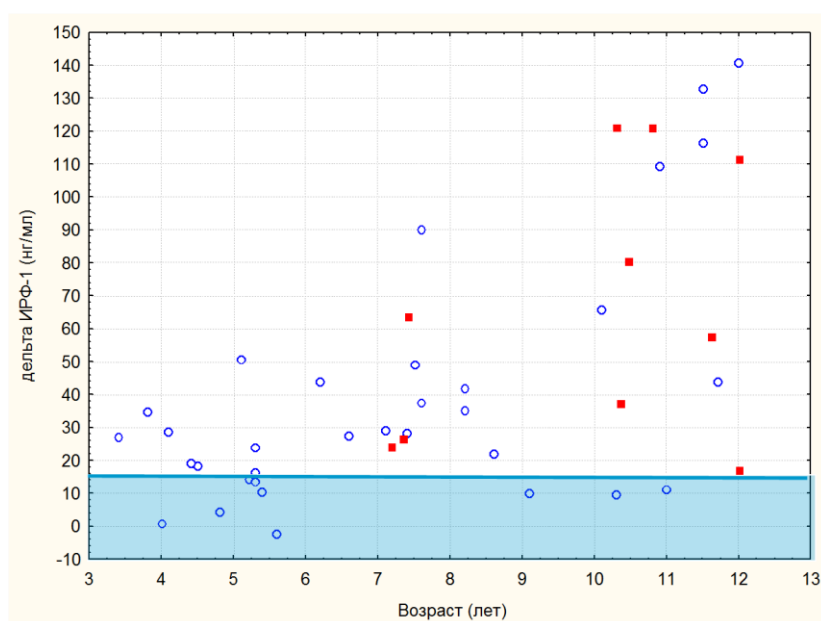


Рис.7. Результаты теста на генерацию ИРФ-1 у детей с ИН.

Кружочками показана динамика уровня ИРФ-1 (Δ ИРФ-1 в нг/мл) у детей с дефицитом ИРФ-1, квадратиками – у контрольной группы с нормальным исходным уровнем ИРФ-1 (с заведомо нормальной чувствительностью к ГР).

Сравнительная характеристика детей с нормальной и нарушенной чувствительностью к гормону роста показана в табл.4.

Табл.4.

Базальные клинические и лабораторные характеристики детей с ИН с низким уровнем ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 менее -1), подвергнутых тесту на генерацию ИРФ-1.

Диагноз	Синдром резистентности к гормону роста (n = 9)	Нормальная чувствительность к гормону роста (n = 24)	
Соотношение по полу	(7 м и 2 д) 3,5 : 1	(17 м и 7 д) 2,4 : 1	P>0,05
Хронологический возраст (лет)	6,7 ± 2,6 (4,0÷11,0)	7,4 ± 2,7 (3,4÷12,0)	P>0,05
Костный возраст (лет)	3,7 ± 2,2 (2,0÷7,0)	4,7 ± 2,5 (1,5÷10,0)	P>0,05
Отставание костного возраста от паспортного (лет)	3,0 ± 0,9 (2,0÷4,8)	2,8 ± 1,0 (1,5÷5,5)	P>0,05
Длина тела при рождении (SDS)	-0,40 ± 1,19 (-1,63÷1,78)	-0,21 ± 1,17 (-1,89÷1,78)	P>0,05
Масса тела при рождении (SDS)	-0,49 ± 0,61 (-1,47÷0,24)	-0,87 ± 0,99 (-1,98÷1,65)	P>0,05
SDS целевого роста	-1,06 ± 0,88 (-2,73÷0,08)	-0,84 ± 0,93 (-2,73÷0,61)	P>0,05
Семейная/несемейная форма	5/4	11/13	P>0,05
SDS роста	-3,61 ± 0,71 (-4,63÷-2,69)	-2,75 ± 0,57 (-3,58÷-2,00)	P=0,0009
Скорость роста (см/год)	4,5 ± 1,7 (2,0÷6,2)	4,7 ± 1,2 (2,7÷8,0)	P>0,05
SDS скорости роста	-1,32 ± 2,16 (-4,33÷1,14)	-1,45 ± 1,31 (-3,46÷1,15)	P>0,05
ИМТ (SDS)	-0,19 ± 1,06 (-2,27÷ 1,19)	-0,71 ± 0,77 (-2,78÷ 0,62)	P>0,05
СТГ мах (нг/мл)	18,6 (14,8÷37,0)	19,2 (16,1÷24,0)	P>0,05
СТГ базальный (нг/мл)	1,77 (0,12÷3,5)	0,69 (0,3÷1,9)	P>0,05
ИРФ-1 базальный (SDS)	-2,36 ± 1,02 (-4,19÷ -1,06)	-2,19 ± 0,84 (-4,19÷ -1,15)	P>0,05
ИРФ-1 стимулированный (SDS)	-1,95 ± 0,54 (-2,52÷ -1,00)	-0,38 ± 0,97 (-2,39÷ 1,43)	P=0,00007
Доля детей, нормализовавших уровень ИРФ-1 в ходе теста	0 %	79,2 %	

Дети с предполагаемым синдромом резистентности к СТГ имели достоверно более выраженное отставание в росте, чем дети с ненарушенной чувствительностью к СТГ ($p=0,001$). Подавляющее большинство детей с нормальной чувствительностью к ГР (19 из 24) нормализовало уровень ИРФ-1 в ходе теста, тогда как ни 1 ребенок с резистентностью к концу теста не имел нормальную концентрацию ИРФ-1. SDS ИРФ-1 на 5 день теста достоверно отличался между группами ($p=0,00007$).

Для поиска возможных факторов, влияющих на результаты теста на генерацию, был проведен корреляционный анализ. При этом исследовались следующие показатели:

- Δ ИРФ-1 (разница в исходном и стимулированном уровне ИРФ-1) в нг/мл и SDS.
- степень повышения уровня ИРФ-1 на фоне стимуляции (в SDS).

Выявлено, что главным фактором, влияющим на нормализацию уровня ИРФ-1 в ходе теста, является степень ИРФ-1 дефицита ($R=0,73$, $p=0,000001$). Помимо того, определенный вклад вносит паспортный ($R=0,44$, $p=0,01$) и биологический (костный) возраст ($R=0,47$, $p=0,006$) ребенка.

Аналогичные корреляционные взаимосвязи были выявлены и при анализе разницы в исходном и стимулированном уровне ИРФ-1 в ходе теста (Δ ИРФ-1). Δ ИРФ-1 в нг/мл коррелировал с хронологическим ($R=0,46$, $p=0,007$), костным возрастом ($R=0,52$, $p=0,002$), с исходным уровнем ИРФ-1 в нг/мл ($R=0,47$, $p=0,006$), и в SDS ($R=0,40$, $p=0,02$). Кроме того, обнаружены корреляции с SDS роста ребенка ($R=0,35$, $p=0,046$), а также с SDS индекса массы тела ($R=-0,39$, $p=0,02$). Таким образом, к факторам, влияющим на результаты теста, можно отнести SDS роста, исходный уровень ИРФ-1, паспортный (и костный) возраст, а также ИМТ.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что дети с нарушенной чувствительностью к СТГ имеют более выраженное отставание в росте, более выраженный дефицит ИРФ-1 и более раннее начало заболевания. Скорее всего, влияние ИМТ на результаты теста вторично. Более вероятно, что его результаты зависят не от самого ИМТ, а от дозы применяемого гормона роста.

Оценка эффективности и безопасности лечения рекомбинантным гормоном роста при ИН.

Для изучения эффективности и безопасности терапии рекомбинантным гормоном роста при ИН было обследовано 93 пациента (76 мальчиков и 17 девочек) в возрасте от 3,4 до 12 лет (в среднем $8,1 \pm 2,7$ лет). На момент начала и окончания исследования все дети находились в допубертатном состоянии. Все пациенты были разделены на 3 группы: группа А ($n=38$) получала рГР в дозе 0,033 мг/кг/сут, группа В ($n=18$) получала рГР в дозе

0,05 мг/кг/сут, 3-я группа (n=37) была группой контроля (табл.5). Терапия рГР проводилась в течение 6 мес у 56 детей, в течение 12 мес у 41 ребенка, 18 мес у 24 детей и 24 мес у 18 детей.

Табл.5.

Базальные характеристики детей с идиопатической низкорослостью до лечения.

	На лечении ГР			Группа контроля	Достоверность различий
	Общая группа	Группа А (0,033 мг/кг/сут)	Группа В (0,05 мг/кг/сут)		
Число детей n = 93 (76 м и 17 д)	n = 56 (41 м и 15 д)	n = 38 (29 м и 9 д)	n = 18 (12 м и 6 д)	n = 37 (35 м и 2 д)	
Хронологический возраст (лет)	8,1 ± 2,7 (3,4÷12,0)	7,9 ± 2,7 (3,4÷12,0)	8,5 ± 2,8 (4,0÷12,0)	8,0 ± 3,0 (4,0÷12,0)	P > 0,05
Костный возраст (лет)	5,1 ± 2,5 (1,5÷10,0)	5,0 ± 2,4 (1,5÷10,0)	5,2 ± 2,6 (2,0÷10,0)	5,6 ± 3,7 (2,0÷10,0)	P > 0,05
SDS роста	-2,96 ± 0,65 (-4,67÷-2,00)	-2,94 ± 0,67 (-4,67÷-2,00)	-3,00 ± 0,62 (-4,63÷-2,20)	-2,95 ± 0,59 (-4,87÷-2,12)	P > 0,05
Семейная/несемейная форма	29/27	20/18	9/9	18/19	P > 0,05
Прогнозируемый рост (SDS)	-1,54 ± 1,23 (-3,46÷+0,66) n = 21	-1,57 ± 1,32 (-3,46÷+0,66) n = 14	-1,54 ± 1,23 (-3,02÷+0,20) n = 7		P > 0,05
Скорость роста (см/год)	4,5 ± 1,2 (2,0÷8,0)	4,5 ± 0,9 (2,6÷6,8)	4,5 ± 1,5 (2,0÷8,0)	4,5 ± 1,2 (2,0÷7,0)	P > 0,05
SDS скорости роста	-1,54 ± 1,39 (-4,92÷+1,15)	-1,59 ± 1,30 (-4,92÷+0,72)	-1,46 ± 1,57 (-4,33÷+1,15)	-1,61 ± 1,43 (-4,40÷+1,39)	P > 0,05
СТГ мах (нг/мл)	22,0 ± 13,7 (10,0÷79,4)	22,8 ± 15,3 (10,0÷79,4)	20,1 ± 9,2 (10,1÷44,5)	20,1 ± 9,2 (10,1÷44,6)	P > 0,05
ИРФ-1 (SDS)	-1,58 ± 1,44 (-4,69÷ +2,09) n=52	-1,51 ± 1,49 (-4,19÷ +2,09) n=35	-1,65 ± 1,38 (-4,69÷ +1,29) n=17	-1,60 ± 1,41 (-3,69÷ +2,12) n=32	P > 0,05

В обеих группах, получавших лечение, отмечалось статистически значимое увеличение абсолютной и относительной скорости роста (как по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению с контрольной группой). В среднем скорость роста на первом году лечения в группах А и В повысилась с 4,5±1,2 до 7,9±1,5 и 9,1±1,5 см/год, соответственно. На втором году терапии отмечалось небольшое снижение темпов роста (7,1±1,4 и 7,9±1,6 см/год, соответственно). Тем не менее, скорость роста, была больше исходной и скорости роста в группе контроля. В контрольной группе на протяжении 2 лет наблюдения скорость роста достоверно не изменялась. Увеличение скорости роста способствовало уменьшению степени отставания в росте. Суммарная прибавка SDS роста (Δ SDS роста) за 1 год терапии составила 0,56±0,28 (в группе А), и 0,71±0,22 (в группе В). За 2 года лечения суммарная Δ SDS роста составила 0,94±0,29 и 1,06±0,67,

соответственно. В группе контроля степень отставания в росте не улучшилась ($-0,04 \pm 0,20$ за 1 год и $0,01 \pm 0,28$ за 2 года).

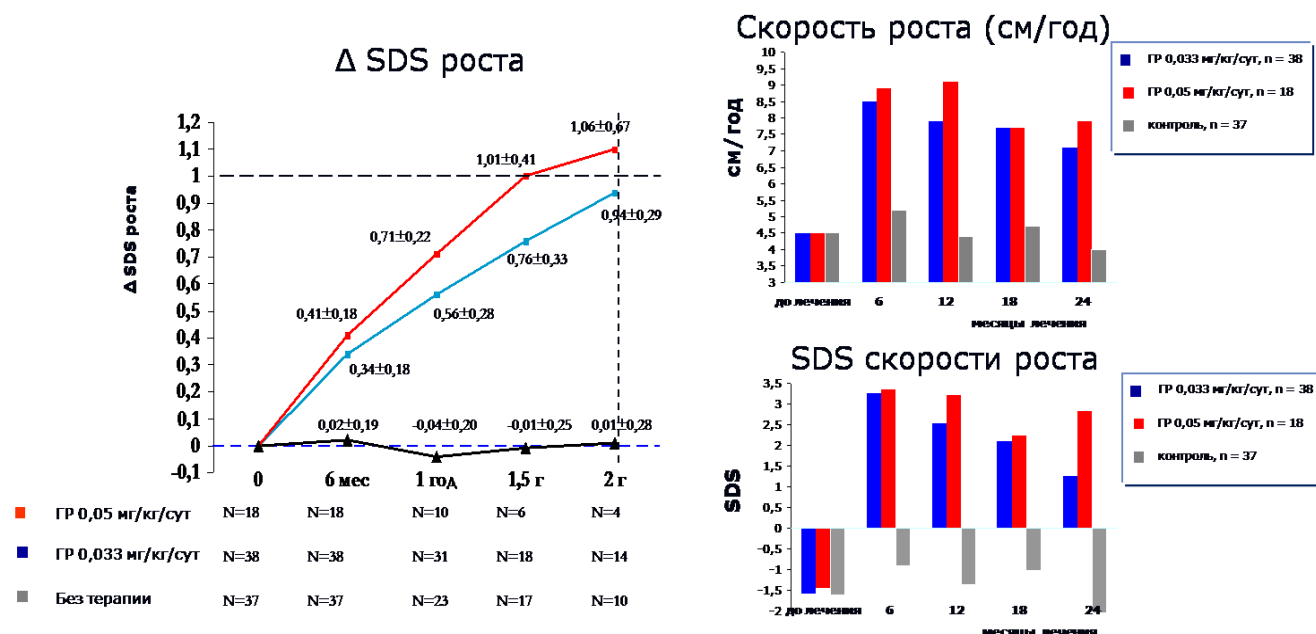


Рис.8. Динамика абсолютной (см/год) и относительной (SDS) скорости роста, а также улучшение ростовых показателей (Δ SDS роста) на фоне терапии гормоном роста.

Результатом терапии стало достижение нормального роста (>-2 SDS) у 21 % детей через 6 мес лечения, 30 % через 1 год и 37 % через 2 года лечения. В то же время в контрольной группе нормализации роста не наблюдалось ни у одного ребенка.

Влияние терапии рГР на темпы костного созревания. При анализе влияния терапии рГР на темпы костного созревания нами были получены противоречивые данные. Часть детей (10 из 35), получавших рГР, демонстрировала ускорение костного созревания (в 1,5-2 раза), у остальных 25 подобного феномена не наблюдалось. В то же время из 6 детей, не получавших лечение, у 1 ребенка наблюдалось ускорение костного созревания в 1,5 раза. Зависимости темпов созревания от получаемой дозы препарата выявлено не было. Однако, выявлена корреляционная зависимость динамики костного созревания от степени отставания в росте ($r=0,37$, $p=0,03$, $n=35$), исходного паспортного ($r=0,46$, $p=0,005$, $n=35$) и костного возраста ($r=0,35$, $p=0,038$, $n=35$) (рис.9). Таким образом, ускорение костного созревания наблюдается у детей более старшего возраста и с меньшей степенью отставания в росте.

При анализе динамики прогнозируемого роста (по методу Bayley-Pinneau) в когорте из 21 ребенка выявлена тенденция к улучшению через 1 год лечения ($p=0,074$, $n=12$) и достоверное улучшение ростового прогноза через 2 года терапии ($p=0,025$, $n=5$).

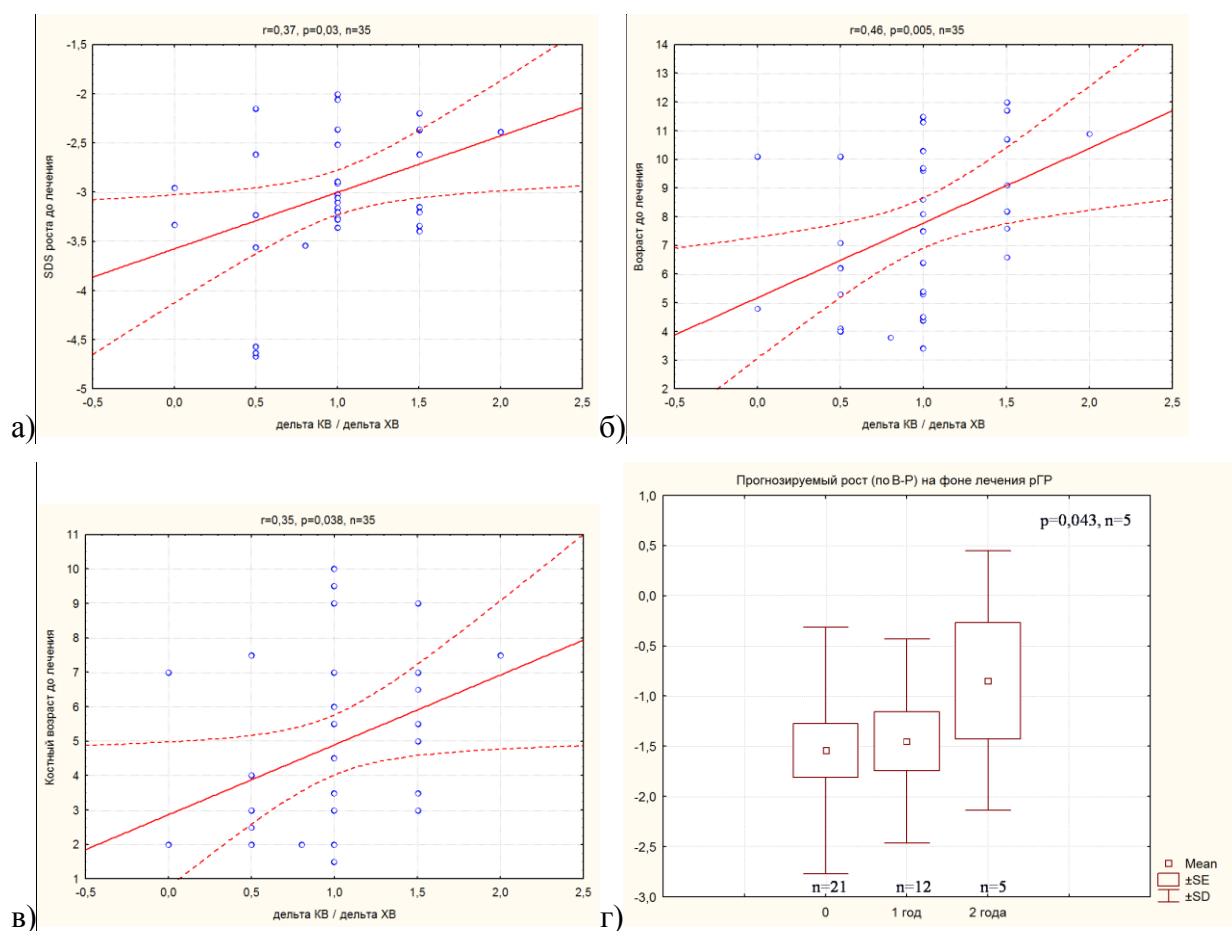


Рис.9. Корреляционная зависимость темпов костного созревания от SDS роста до лечения (а) исходных паспортного (б) и костного возраста (в), а также динамика прогнозируемого роста (по Bayley-Pinneau) на фоне терапии рГР (г).

Динамика уровня ИРФ-1 на фоне лечения. На фоне терапии рГР отмечалось достоверное увеличение уровня ИРФ-1 в крови. При этом средний уровень ИРФ-1 на протяжении всей терапии находился в пределах нормальных значений. Интересно, что не отмечалось зависимости между степенью увеличения ИРФ-1 и дозой рГР, хотя средние показатели SDS ИРФ-1 у детей, получавших рГР в дозе 0,05 мг/кг/сут, были несколько больше (статистически незначимо). Корреляционной взаимосвязи между уровнем ИРФ-1 на терапии и эффективностью лечения (скорость роста, SDS скорости роста, Δ SDS роста) получено не было.

Изменения биохимических параметров на фоне лечения. На фоне терапии рГР не отмечалось достоверного изменения показателей липидного обмена (холестерин, ЛПВП, ЛПНП, триглицериды, индекс атерогенности), а также параметров функции печени (АЛТ, АСТ, общий белок). Кроме того, показатели функции щитовидной железы (св.Т4, ТТГ), а также функции почек (креатинин, мочевина) на фоне лечения также оставались в пределах нормальных значений.

При анализе показателей углеводного обмена не выявлено значимых изменений уровня глюкозы, ИРИ, а также индекса Каро. Повышение уровня гликированного гемоглобина, наблюдаемые нами у 2 детей, не сопровождалось нарушением толерантности к глюкозе и возникновением инсулинорезистентности, и самостоятельно снизились до нормы через 6 мес.

Увеличение уровня щелочной фосфатазы в 1,5 раза, наблюдаемое нами на фоне лечения, происходит, вероятно, за счет увеличения ее костной фракции и является показателем ремоделирования костной ткани, а не патологического процесса.

Факторы, влияющие на эффективность терапии.

Была проведена подробная оценка следующих возможных факторов, влияющих на эффективность терапии рекомбинантным гормоном роста у детей с идиопатической низкорослостью:

- 1) доза гормона роста
- 2) возраст начала лечения
- 3) уровень ИРФ-1
- 4) тест на генерацию ИРФ-1
- 5) семейный анамнез.

Было обнаружено, что главными факторами, определяющими эффект лечения, являются возраст начала терапии и получаемая доза.

Лечение у детей, получавших более высокую дозу гормона роста, было более эффективно. Однако, в силу большой гетерогенности ИН, полученные различия между группами были не всегда достоверны. Корреляционная зависимость эффективности терапии от дозы рГР наблюдалась нами только при анализе абсолютной скорости роста через 1 год лечения ($r=0,32$, $p=0,043$, $n=41$). В обеих группах наблюдался большой диапазон ответа на лечение (от высокой эффективности до полной нечувствительности), в независимости от получаемой дозы препарата.

Возраст начала лечения оказался более важным прогностическим фактором. Так наблюдалась его обратная корреляционная зависимость– с Δ SDS роста на 6 мес ($r=-0,50$, $p=0,00024$, $n=56$), 12 мес ($r=-0,45$, $p=0,0029$, $n=41$), 18 мес ($r=-0,68$, $p=0,0013$, $n=24$) и 24 мес терапии ($r=-0,51$, $p=0,032$, $n=18$) (рис.10).

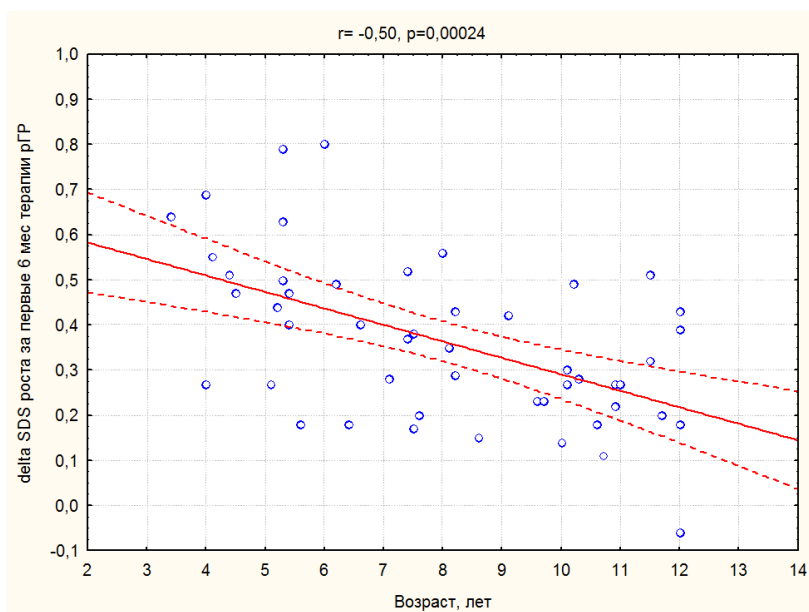


Рис. 10. Зависимость эффективности терапии от возраста начала лечения.

Достоверных данных за влияние исходного уровня ИРФ-1 на эффективность терапии получено не было, вероятно из-за большой гетерогенности ИН.

В зависимости от уровня ИРФ-1 и эффективности терапии все дети были разделены на несколько групп.

- 1) бионеактивный СТГ (при низком уровне ИРФ-1 и хорошем эффекте на малых дозах ГР)
- 2) парциальная резистентность к ГР (при низком уровне ИРФ-1 и хорошем эффекте на высоких дозах ГР)
- 3) тотальная резистентность к ГР (при низком уровне ИРФ-1 и плохом эффекте на высоких дозах ГР)
- 4) парциальная резистентность к ИРФ-1 (при нормальном и высоком уровне ИРФ-1 и хорошем эффекте на разных дозах ГР)
- 5) тотальная резистентность к ИРФ-1 (при нормальном и высоком уровне ИРФ-1 и плохом эффекте на высоких дозах ГР)

Определена частота встречаемости различных подгрупп (табл.6).

Табл.6.

Частота встречаемости различных вариантов ИН.

Вариант ИН	Частота встречаемости (%)		
	при ИН	при низком ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 < -1)	при нормальном ИРФ-1 (SDS ИРФ-1 > -1)
Бионеактивный СТГ	26,9 %	37,8 %	-
Невозможно дифференцировать	23,1 %	32,4 %	-

парциальную резистентность к ГР и бионеактивный СТГ			
Невозможно точно определить форму резистентности к ГР	17,3 %	24,4 %	-
Тотальная резистентность к ГР	3,9 %	5,4 %	-
Парциальная резистентность к ИРФ-1	19,2 %	-	66,7 %
Невозможно точно определить форму резистентности к ИРФ-1	7,7 %	-	26,6 %
Тотальная резистентность к ИРФ-1	1,9 %	-	6,7 %

В итоге была подсчитана вероятность хорошего и плохого ответа на лечение в общей группе ИН, а также в зависимости от уровня ИРФ-1. Исходя из полученных данных, можно точно предполагать эффективность терапии ГР в 69,2 % случаев (в 70,2 % при низком и в 66,7 % при высоком ИРФ-1). Лечение неэффективно в 5,8 % (у 5,4 % детей с низким и у 6,7 % детей с высоким ИРФ-1). В 21 % предсказать ответ на лечение невозможно (в 24,4 % при низком и в 26,6 % при высоком ИРФ-1).

Эффективность лечения гормоном роста у детей с резистентностью к СТГ (по данным теста на генерацию ИРФ-1) и детей с нормальной чувствительностью к гормону роста достоверно не отличалась. Не выявлено корреляции между эффективностью терапии (скорость роста, SDS скорости роста, Δ SDS роста) и динамикой ИРФ-1 на тесте (Δ ИРФ-1 в нг/мл и SDS, а также SDS ИРФ-1 на 5 день). Специфичность и чувствительность теста на генерацию ИРФ-1 составила 75 % и 22,2 %, соответственно (табл.7).

Табл.7.

Оценка прогностической значимости теста на генерацию ИРФ-1.

n=21	Плохой эффект (n=9)	Хороший эффект (n=12)
Резистентность к СТГ (n=5)	Истинно положительный результат (n=2)	Гипердиагностика (n=3)
Нормальная чувствительность к гормону роста (n=16)	Гиподиагностика (n=7)	Истинно отрицательный результат (n=9)

При проведении корреляционного анализа какой-либо зависимости эффективности лечения от наличия или отсутствияотягощенного семейного анамнеза (SDS целевого роста) не получено. Эффективность лечения у детей с семейной и несемейной формами низкорослости достоверно не отличалась.

Молекулярно-генетический анализ.

Молекулярно-генетический анализ генов системы СТГ-ИРФ-1 при ИН. В целях изучения молекулярных основ ИН у 20 пациентов проведен молекулярно-генетический анализ генов системы СТГ-ИРФ-1 (табл.8). Исследовалось 6 генов: *IGFALS* (n=20), *GHR* (n=13), *STAT5b* (n=20), *IGF1R* (n=8), *IGF1* (n=3), *GH-1* (n=3).

В изучаемой когорте мутаций не обнаружено, однако было выявлено 10 полиморфизмов (SNPs) - 2 в гене *GHR*, 1 (новый) в гене *STAT5b*, 4 (из них 1 новый) в гене *IGFALS* и 3 новых в гене *IGF1R* (n=8). В то же время секвенсинг гена *IGF1* и гена *GH-1* у детей с предполагаемыми биологически неактивным ИРФ-1 и биологически неактивным СТГ каких-либо изменений со стороны ДНК не выявил.

В основном (в 6 случаях, в том числе 1 новом) полиморфизм имел синонимичный характер, т.е. выражался в простой замене одного нуклеотида на другой (например, Т на С или А на G), не ведущей в то же время к замене одной аминокислоты на другую. Синтезированный пептид, таким образом, не отличается по аминокислотному составу при различных вариантах генотипа.

В 2 случаях замена нуклеотидов привела к замене аминокислот в пептиде - несинонимичный (миссенс) тип SNP. Так замена аденина на цитозин в 1632 положении в экзоне 10 гена рецептора гормона роста (*GHR*) привела к замене изолейцина на лейцин в положении 544 в гомозиготном состоянии у 4 детей и гетерозиготном у 7 из 13 детей. Однако, данный вид полиморфизма широко встречается в общей популяции и, по данным международной базы полиморфизмов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) не отмечено какой-либо его связи с фенотипическими проявлениями. Другой несинонимичный (миссенс) полиморфизм в экзоне 2 гена кислото-лабильной субъединицы (*IGFALS*), приводящий к замене цистеина на тирозин в положении 583 у 1 ребенка, не описан в базе полиморфизмов. Однако, мутации этого гена приводят к низкорослости лишь в гомозиготном состоянии или при наличии сочетанной или компаундной мутации. В нашем же случае замена имеет гетерозиготный характер при отсутствии другой замены в белке, т.е. является полиморфизмом.

Что касается новых полиморфизмов в гене рецептора ИРФ-1 (*IGF1R*), их "непатологический" характер был подтвержден обнаружением аналогичной находки у матери одного ребенка, не страдающей низкорослостью.

Табл.8.

Результаты молекулярно-генетического анализа у 20 детей с ИН.

	Полиморфизм	Характер SNP
ген <i>GHR</i> (n=13 чел)		
1	G186G, GGA>GGG, экзон 6	синонимичный
2	I544L, ATC>CTC, экзон 10	Несинонимичный (миссенс)
ген <i>STAT5b</i> (n=20 чел)		
3	L83L, CTG>TTG, экзон 3	синонимичный
ген <i>IGFALS</i> (n=20 чел)		
4	D70D, GAT>GAC, экзон 2	синонимичный
5	A267A, GCG>GCA, экзон 2	синонимичный
6	Y462Y, TAC>TAT, экзон 2	синонимичный
7	C583Y, TGT>TAT, экзон 2	Несинонимичный (миссенс)
ген <i>IGFIR</i> (n=8 чел)		
8	IVS2 +20C>T, интрон 2	Интронный
9	IVS5 +3A>G, интрон 5	Интронный
10	E1043E, GAG>GAA, экзон 16	синонимичный

Анализ полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3*.

Главными задачами при анализе полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3* были:

- оценить частоту встречаемости различных аллельных вариантов полиморфизма при ИН.
- изучить возможное влияние генотипа на клинические и лабораторные параметры.
- оценить влияние полиморфизма на эффективность лечения рекомбинантным гормоном роста.
- изучить влияние полиморфизма на чувствительность к СТГ (способность к синтезу ИРФ-1) в ходе кратковременного (тест на генерацию) и длительного (6 мес терапии гормоном роста)

Для изучения влияния полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3* на клинические и лабораторные характеристики при ИН генотипировано 39 детей с ИН в возрасте от 4 до 12 лет (средний возраст $7,7 \pm 2,4$ лет). Среди них 31 мальчик и 8 девочек. 22 ребенка (56,4%) имело дикий тип гена рецептора гормона роста, 16 детей (41%) было гетерозиготны и у 1 мальчика (3,5%) наблюдалась гомозиготная делеция экзона 3 (*GHRd3*). Частота распределения генотипа при ИН показана на рис.11.

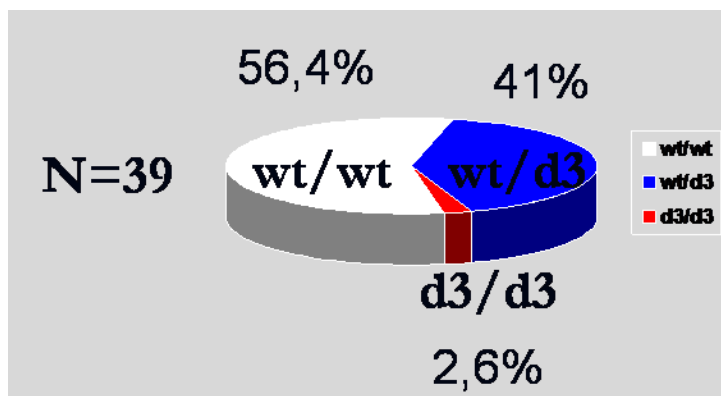


Рис.11. Частота встречаемости различных аллельных вариантов полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3* при ИН.

Частота встречаемости различных аллельных вариантов полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3* не отличалась от частоты, наблюдающейся у 150 здоровых детей (контрольная группа) российской популяции (Орловский, 2004). При сравнении групп между собой не обнаружено влияния генотипа на клинические и лабораторные характеристики (в том числе на степень отставания в росте, скорость роста, стимулированную секрецию СТГ и уровень ИРФ-1).

При сравнении эффективности 6 - месячной терапии гормоном роста в дозе 0,033 мг/кг/сут, проведенной у 21 пациента с различными аллельными вариантами полиморфизма гена рецептора гормона роста *GHRd3*, достоверных различий между группами не найдено.

В группе из 29 допубертатных детей с ИН различные варианты полиморфизма *GHRd3* не отличались в степени чувствительности к гормону роста, оцениваемой с помощью стандартного теста на генерацию ИРФ-1. Кроме того не было выявлено взаимосвязи между генотипом и уровнем подъема ИРФ-1 на фоне лечения. По нашим данным, дикий тип полиморфизма *GHRd3* встречается одинаково часто как при синдроме резистентности (62,5%), так и при нормальной чувствительности к СТГ(57,1%), существенно не отличаясь от общей группы детей с ИН (58,6%).

Таким образом, полиморфизм *GHRd3* у детей с ИН существенно не влияет на фенотип и не может выступать в качестве предиктора ростового ответа при решении вопроса о назначении терапии гормоном роста.

Выводы:

- 1) Идиопатическая низкорослость - гетерогенная группа, включающая **семейную форму (23,5%)** с задержкой (60,4%) и без задержки (39,6%) пубертата, и **несемейные формы (76,5%)** с задержкой (58,8%) и без задержки (41,2%) пубертата. Задержка роста при ИН сопоставима с задержкой роста при дефиците гормона роста и синдроме Шерешевского-Тернера. Для их исключения в процессе диагностики у всех детей с задержкой роста требуется проведение СТГ-стимуляционных проб и кариотипирование (у девочек).
- 2) На основании проведенного проспективного исследования выявлено, что лишь 47,7 % детей с ИН достигают конечного роста в пределах нормальных значений (но не выше 50 перцентили). Дети с семейной формой низкорослости имеют более худший ростовой прогноз. При задержке пубертата (как при несемейной, так и при семейной формах) конечный рост лучше. Для прогнозирования конечного роста возможно применение метода Bayley-Pinneau, которое обладает большей диагностической ценностью, чем вычисление целевого (генетического) роста.
- 3) Степень повышения СТГ на стимуляции, а также МР-картина головного мозга при ИН не имеют клинико-диагностической ценности. В зависимости от уровня ИРФ-1 можно выделить группы ИН со сниженным (58,9%), нормальным (31,9%) и повышенным уровнем ИРФ-1 (9,2%). Чем меньше уровень ИРФ-1, тем больше выражено отставание в росте. Несмотря на менее выраженную задержку роста, дети с высоким уровнем ИРФ-1 (резистентность к ИРФ-1) имеют более худший ростовой прогноз.
- 4) Нарушение чувствительности к СТГ (“синдром резистентности к гормону роста”) по данным теста на генерацию ИРФ-1 встречается у 27,3% детей с ИН с низким уровнем ИРФ-1 и характеризуется более ранним и выраженным отставанием в росте, значительным дефицитом ИРФ-1 и более плохим ростовым прогнозом. Дети из этой группы, вероятно, являются кандидатами для лечения препаратами ИРФ-1.
- 5) Лечение рГР у детей с ИН в дозах 0,033-0,05 мг/кг/сут безопасно и сопровождается повышением скорости роста у подавляющего большинства детей, с нормализацией ростовых показателей у 37% детей уже через 2 года лечения.
- 6) Эффект ростстимулирующей терапии лучше выражен при начале лечения в младшем возрасте, при применении больших доз и не зависит от уровня ИРФ-1,

данных теста на генерацию ИРФ-1, а также вариантов полиморфизма гена рецептора ГР.

- 7) Дефекты генов системы СТГ-ИРФ-1 (*GHI*, *GHR*, *STAT5b*, *IGFALS*, *IGF1*, *IGF1R*) не являются частыми причинами задержки роста при ИН. Исследование этих генов не показано в рутинной практике и должно проводиться лишь при наличии четких показаний. Частота встречаемости различных вариантов полиморфизма *GHRd3* при ИН не отличается от популяционной. Полиморфизм *GHRd3* не влияет на клиничко-лабораторные параметры, результаты теста на генерацию и эффективность терапии рГР.

Практические рекомендации:

1. Лечение рГР при ИН следует начинать в младшем школьном возрасте. Рекомендуемая доза – 0,05 мг/кг/сут. Терапия должна проводиться под регулярным наблюдением врача, включающем оценку эффективности и безопасности лечения – тщательный мониторинг антропометрических показателей, ежегодное определение костного возраста, контроль уровня ИРФ-1 в крови, а также показателей углеводного обмена (глюкоза, ИРИ, гликированный гемоглобин).
2. У детей с ИН с низким уровнем ИРФ-1 для исключения “синдрома резистентности к СТГ” необходимо проведение дополнительных методов исследования (молекулярно-генетический анализ, тест на генерацию ИРФ-1).

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

- 1) Шандин А.Н., Петеркова В.А. / Классификация, диагностика и лечение идиопатической низкорослости. / Проблемы эндокринологии, 2009, т.55, N4, 36-44.
- 2) Shandin A.N., Chogovadze A.G., Shiryaeva T.Y., Generozov E.V., Peterkova V.A. / Presence of the exon 3 deleted isoform of GH receptor (GHRd3) does not influenced on clinical and laboratory characteristics, IGF-1 generation test and the response to rGH treatment in children with ISS. / Hormone Research 2009; 72 (suppl 3): 247 (abstract on 8th Joint ESPE/LWPES Meeting, New York, USA).
- 3) Шандин А.Н., Волеводз Н.Н., Ширяева Т.Ю. / Эффективность лечения рекомбинантным гормоном роста детей с идиопатической низкорослостью. / Сборник тезисов: Всероссийский конгресс "Современные технологии в эндокринологии" (тиреоидология, нейроэндокринология, эндокринная хирургия), 23-26 ноября 2009, Москва, с. 316-317.
- 4) Шандин А.Н., Петеркова В.А. / Факторы, определяющие эффективность лечения рекомбинантным гормоном роста у детей с идиопатической низкорослостью. / Сборник тезисов: IV Московская Городская Научно-практическая Конференция "Эндокринологические аспекты в педиатрии", 16-17 ноября 2010, Москва, с.35-36.
- 5) Шандин А.Н., Нагаева Е.В., Петеркова В.А., Дедов И.И. / Эффективность и безопасность применения рекомбинантного гормона роста у детей с идиопатической низкорослостью. / Проблемы эндокринологии, 2010, т.56, N6, 14-23.
- 6) Петеркова В.А., Шандин А.Н. / Идиопатическая низкорослость у детей (диагностика и лечение). Пособие для врачей. 2011.

Список сокращений

ИН – идиопатическая низкорослость
СТГ – соматотропный гормон
ИРФ-1 – инсулиноподобный ростовой фактор
pГР – рекомбинантный гормон роста
СШТ – синдром Шерешевского – Тернера
КЗР – конституциональная задержка роста
ЗВУР – задержка внутриутробного развития
МДГА – множественный дефицит гормонов аденогипофиза
ИДГА – изолированный дефицит гормонов аденогипофиза
ХВ – хронологический возраст
КВ – костный возраст
ИМТ – индекс массы тела
Hb_{A1c} – гликозилированный гемоглобин_{A1c}
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
SDS – standart deviation score (коэффициент стандартного отклонения)
GHI – ген гормона роста
GHR – ген рецептора гормона роста
GHRd3– делеция 3 экзона гена рецептора гормона роста
wt/wt – «дикий» тип рецептора
wt/d3 – гетерозиготная делеция экзона 3
d3/d3 – гомозиготная делеция экзона 3
FGFR-1 – ген рецептора 1 фактора роста фибробластов
IGF1 – ген инсулиноподобного ростового фактора 1
IGFALS – ген кислото-лабильной субъединицы
IGFBP3 – ген связывающего белка 3 инсулиноподобного ростового фактора
IGF-1-R – ген рецептора инсулиноподобного ростового фактора 1
JAK2 – ген янускиназы 2
STAT5b – ген трансдуктора и активатора сигналинга 5b
SHOX – ген гомеобокса низкорослости